

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Neukölln

Direktor : Professor Dr. med. Klaus Holidack
und aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation
mit Euratom München
(Leiter: Professor Dr. med. W. Stich)

Phasenkontrastmikroskopische
Verlaufsbeobachtungen an
in vitro überlebenden Erythroblasten

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Verena Correll geb. Seitz
aus Berlin

1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Neukölln

Direktor : Professor Dr. med. Klaus Holldack
und aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation
mit Euratom München
(Leiter: Professor Dr. med. W. Stich)

**Phasenkontrastmikroskopische
Verlaufsbeobachtungen an
in vitro überlebenden Erythroblasten**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Verena Correll geb. Seitz
aus Berlin

Referent: Professor Dr.med. Irene Boll

Korreferent: Professor Dr.med. Hans-Joachim Engel



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 10. 5. 1971

E I N L E I T U N G

Die Entdeckung der Erythroblasten als kernhaltige Vorstufen der Erythrozyten geschah vor rund 100 Jahren (BIZZOZERO, 1868; NEUMANN, 1868). Seitdem ist bekannt, daß sich die Erythropoese im Knochenmark abspielt. Die tägliche Neubildungsrate an Erythrozyten beträgt um 200×10^9 (PLUM, 1949; WEICKER, 1955, 1967; RUHRMANN, 1966). Die Lebensdauer wird mit 120 Tagen angegeben (ASHBY, 1919; MOLLISON u. VEALL, 1955). Dem steht ein bestimmtes Volumen an blutbildendem Mark gegenüber. WEICKER (1953) berechnete das Markvolumen aller Erythroblasten auf $100 - 200 \text{ cm}^3$, RUHRMANN (1966) auf $50 - 100 \text{ cm}^3$. Um den Bedarf an Erythrozyten mit der Menge vorhandener Erythroblasten im Knochenmark zu korrelieren, wurden sehr unterschiedliche Vorstellungen und Arbeitshypothesen entwickelt.

BOSTRÖM (1941, 1944) und PLUM (1947) kamen aus ihren rechnerischen Ergebnissen zu dem Schluß, daß das menschliche Knochenmark nicht in der Lage sein könnte, allein durch Mitosen täglich 200×10^9 Erythrozyten zu bilden. Sie waren der Meinung, daß sich die Erythrozyten durch Plasmaabschnürung aus Erythroblasten bilden, so daß aus jedem einzelnen Erythroblasten zahlreiche Erythrozyten entstünden.

WEICKER entwickelte (1953 - 1957) ein Modell, das auf morphologischer und quantitativer Grundlage fußt. Nach der JAKOBISchen Lehre der rhythmischen Kernverdoppelung bei der Zellteilung verhalten sich die Kernvolumina aufeinanderfolgender Kernklassen im Verhältnis 1:2:4:8:16 (1925). LEIBTSEDER (1948) wies 5 Erythrobla-

stengenerationen nach, deren Kernvolumina dieser 2er Potenzrelation entsprechen. WEICKER bestätigte dann die Verteilungskurve der Erythroblastenkernvolumina. Der Proerythroblast als Stammzelle genügt im hemihomohemiheteroplastischen Teilungsakt dem Gesetz der Kontinuität und liefert in 3 sukzedanen erythroblastischen Kernvolumenhalbierungsteilungen mit begleitender kontinuierlicher Reifung 8 Erythrozyten.

Davon unterscheidet sich das Erythropoesemodell LAJTHAs (1960), das auf Untersuchungen mit radioaktiven Isotopen beruht, im wesentlichen durch die Feststellung, daß ein Teil der Erythropoese ineffektiv abläuft, d.h. nicht zur Bildung reifer Erythrozyten führt sowie im Stammzellproblem; LAJTHA nimmt an, daß alle Proerythroblasten irreversibel durch Teilung und Differenzierung zu Erythrozyten werden; daß also jede Zelle bei der Teilung in die nächste Reifestufe oder Kernklasse eintritt. Eine ausführliche Darstellung der Erythropoesemodelle mit zahlreichen Literaturangaben findet sich bei LEIBETSEDER (1957), RIND (1963), STOBBE (1967) und WEICKER (1967).

Im Phasenkontrastmikroskop kommen die nativen Zellen mit ihren Strukturelementen und sichtbaren Funktionsäußerungen klar und kontrastreich zur Darstellung (RIND, 1963). Die Anwendung der Kinematographie dokumentiert die beobachteten Lebensvorgänge und erlaubt eine genaue Analyse, da

1. bestimmte Veränderungen zeitlich zuzuordnen sind,
2. langsam ablaufende Vorgänge durch den Zeitraffer so beschleunigt werden, daß sie deutlicher werden,

3. eine mehrmalige Betrachtung desselben Vorganges möglich ist,
4. einzelne Teilbilder in graphischer Darstellung verwertet werden können.

In der vorliegenden zytomorphologischen Arbeit werden Lebensäußerungen von Erythroblasten in vitro dargestellt; Zell- und Kernmessungen sollen zeigen, ob ihr Verhalten den nach Ausstrichpräparaten und Markierungsversuchen aufgestellten Modellen entspricht. Differenzierende Beschreibungen der Zellen der Erythropoese sind bei RIND (1958, 1963) und STOBBE (1960) zu finden.

M A T E R I A L u n d M E T H O D E

Die Beobachtung der Knochenmarkzellen der Erythropoese wird im Phasenkontrastmikroskop mit 70- und 100-facher Ölimmersion durchgeführt und erfolgt im Mikroskop-Wärmeschrank bei 37° C. Als Mikroskope kommen 2 "Laborlux"-Geräte der Firma Leitz, Wetzlar, ein Zeiss "Opton"-Gerät und ein Zeiss "Standard WL"-Gerät zur Verwendung. Zur Dokumentation wird eine Bolex H 16"-Reflex-Kamera auf Schwarz-Weiß-Negativfilm benutzt. Die Aufsatzkamera ist über eine Zeitraffereinrichtung der Fa. Kindervater, Berlin-Neukölln, geschaltet. Zur Beleuchtung dienen leistungsstarke Niedervoltlampen. Die Belichtung erfolgt automatisch und die Belichtungszeit beträgt 1/4 bzw. 1/2 Sekunde. Aufnahmen entstehen je nach Aktivität der untersuchten Zellen alle 10 bis 20 Sekunden.

Die Knochenmarkzellen aus Sternalpunktaten werden zu Kulturen nach der CARRELSchen Deckglasmethode mit dem hängenden Koagulumtropfen in einer Modifikation nach BOLL (1966) angelegt. Als Kulturmedium dient ein groß und flach ausgezogener Koagulumtropfen auf einem Objektträger, der aus 50 % Nativ-Plasma des jeweiligen Patienten, 10 % Cortison^R der Fa. Chemiewerke Homburg (ein Extrakt aus embryonalen Schweineherzen) und 40 % Hanks Lösung besteht. Nachdem die Koagulumtropfen geronnen sind, werden mit Star-messern Knochenmarkbröckchen aufgesetzt und mit einem kleinen Serumtröpfchen bedeckt. Über dem ganzen wird ein Hohl-schliffobjektträger mit Vaseline befestigt. Das fertige Präparat wird umgewendet und die Deckglasränder werden mit flüssig gemachtem Hartparaffin verschlossen. Die Kulturen werden im Brutschrank bei 37° C inkubiert.

Die Lebendbeobachtung der Zellen erfolgt in der sog. "platten Kultur". Dazu werden Zellen der Koagulumkultur (hängender Tropfen) mit einer Deckglasecke in einer dünnen Schicht möglichst frei von Flüssigkeit auf einen flachen Tropfen des oben beschriebenen Koagulums gesetzt, mit einem Deckgläschen, das leicht angedrückt wird, bedeckt und mit Paraffin abgedichtet. Die Strukturen stellen sich um so besser dar, je niedriger die planparallele Kammer ist. Aus dem variablen Druck beim Anpressen des Deckgläschens, der unterschiedlichen Koagulumdicke und seiner welligen Oberflächenbeschaffenheit resultiert von Präparat zu Präparat ein unterschiedlicher Abstand zwischen Objektträger und Deckglas. Exakte Messungen der Kammerhöhe werden nicht durchgeführt. Die Zellen kommen durchschnittlich 11,3 Stunden (1 - 26 Std.) nach der Sternalpunktion in der platten Kultur zur Beobachtung.

Die Erythroblasten liegen bei dieser Methode flach unter dem Deckgläschen ausgebreitet (SENDA, 1961), der Kern ist weniger abgeplattet als das Plasma (Abb. 1).

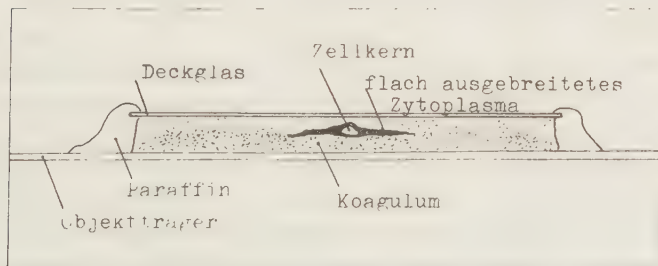


Abb. 1: Schematische Darstellung der "platten Kultur"

Die Zelle und besonders der Zellkern sind dann scharf dargestellt, wenn sie so abgeplattet wie möglich in einer dünnen Flüssigkeitsschicht unter dem Deckglas liegen. Dann ist ihr immer vorhandener Phasenkontrasthalo auch am schmalsten (RIND, 1963). Rundet sich die Zelle ab, z.B. während der Mitose (BOLL, 1966), so wird sie unschärfer und gleichzeitig nimmt die Breite ihres Phasenkontrasthalos zu, beides Anzeichen für die Zunahme ihrer Dicke im Phasenkontrastmikroskop.

Zur Größenmessung werden aus einem Material von über 500 Erythroblasten 70 mit scharfen Zellkonturen ausgewählt, die einzeln liegen und sich während der ganzen Untersuchungszeit sicher verfolgen lassen. Zellen, die während der Beobachtungszeit hämolytisch werden sowie Degenerationszeichen zeigen, werden ausgeschlossen. Für die Kernmessungen lassen sich 400 Erythroblasten verwenden.

2 Erythroblasten verschiedener Reifestufen werden während der Mitose beobachtet und aufgezeichnet, um die Zellgröße im abgekugelten Zustand bei der Mitose zu messen, woraus volumetrische Berechnungen möglich sind (BOLL, 1966).

Wir unterscheiden in dieser Arbeit Proerythroblasten von Erythroblasten nach den Differenzierungskriterien von RIND (1963), wobei die Proerythroblasten durch ihre Größe (Kerndurchmesser $16 - 20 \mu$), ihre charakteristische Kernstruktur mit 2 - 5 Kernkörperchen, die Plasmaorganellen sowie das relativ häufigere Vorkommen des Blisterphänomens gekennzeichnet sind. Eine weitere Unterteilung in basophile, polychromatische und reife Erythroblasten wird nicht vorgenommen, zumal wir keine Kontrolle mittels ge-

färbter Präparate durchführen.

Die Auswertung der 16-mm-Positiv-Filme erfolgt mit dem HKS-Filmbetrachter der Fa. Hünemörder, Eßlingen, mit Einzelbildzähler nach Protokoll. Der Bildschirm gibt das 16-mm-Bild linear 10-fach vergrößert wieder. Im Filmbetrachter wird die Zelle zu Beginn des Zeichnens scharf gestellt; im weiteren Verlauf wird daran nichts mehr geändert. Vor die Betrachtungswand, auf die der Film projiziert ist, wird ein Papier gelegt und der Umriss der Zelle und des Zellkernes sorgfältig durchgepaust.

Die Kerngrenze ist durch die deutlich sichtbare Kernmembran gekennzeichnet. Die tatsächliche Zellgrenze liegt nicht darstellbar im Bereich des Lichthofes (RIND, 1963). Da wir sie am inneren Rand des Halos nachzeichnen, erhalten wir regelmäßig kleinere Zellflächen. Die fortlaufenden Zellmessungen werden in der Regel alle 30 Minuten durchgeführt, bei Einzelbeobachtungen bis zu 4 mal pro Minute. Insgesamt wurden 1168 Zell- bzw. Kernumfänge aus den zahlreichen Filmbildeinstellungen herausgezeichnet.

Jede gezeichnete Zelle mit Kern wird 3 mal planimetriert, um mit dem Mittelwert den Planimetrierfehler möglichst zu reduzieren. Die auf der Projektionsfläche entstehende Vergrößerung erfahren wir durch Mitfilmen eines Maßstabes (Objektmikrometer). Wir gewinnen für jede Mikrokinoeinrichtung einen unterschiedlichen Faktor, mit dem der Planimeterwert multipliziert werden muß. Der in μ^2 erhaltene Flächenwert wird auf der Ordinate eines Koordinatensystems eingetragen; die Abszisse gibt die Zeiteinheit wieder. Aus der oben geschilderten Art, wie die Erythroblasten unter dem Deckglas liegen, ergibt sich, daß es nicht möglich ist, Volumenberechnungen der Zellen und Zellkerne, außer in Mito-

se, anzustellen. Wir verwenden die erhaltenen μ^2 der Fläche als Größenbezugssystem.

Mit der zeichnerischen Niederlegung der Zell- und Kerngrößen werden gleichzeitig morphologische Veränderungen an der Zelloberfläche (Blister), Zytoplasmaeinlagerungen (Mitochondrien, Glanzkörner und Vakuolen), fädige Verbindungen zwischen Erythroblasten sowie Degenerationszeichen beobachtet und aufgezeichnet.

ERGEBNISSE

Die Kerngröße von 400 Erythroblasten wird planimetrisch bestimmt und die Größenverteilung graphisch dargestellt. 70 Erythroblasten werden (bis zu 50 Stunden) beobachtet und gefilmt. Von 2 Zellen wird die Zellgröße bei der Mitose bestimmt. Charakteristische Lebensäußerungen sowie Zelleigenheiten werden im Filmbetrachter untersucht und zahlenmäßig ausgewertet.

Gegenstand der Untersuchung sind:

1. Kerngrößenvariation von 400 Erythroblasten
2. Flächenverlaufsmessungen von 70 Erythroblasten
3. Kern-Plasma-Relation (70 Erythroblasten)
4. Volumenbestimmung bei der Mitose (2 Erythroblasten)
5. Fortbewegung (400 Erythroblasten)
6. Veränderungen an der Zelloberfläche: Blistern (70 Erythroblasten)
7. Zytoplasmaeinlagerungen wie Mitochondrien, Glanzkörper und Vakuolen (70 Erythroblasten)
8. Fädige Verbindungen zwischen Erythroblasten (400 Erythroblasten)
9. Degenerationszeichen (70 Erythroblasten)

1. Kerngrößenvariation

Die Flächenmessungen von 400 Erythroblastenkernen sind in Abb. 2 graphisch dargestellt. Auf der Abszisse sind die Kerngrößen in μ^2 eingetragen; die kleinste gemessene Kernfläche beträgt $6 \mu^2$, die größte $138 \mu^2$. Auf der Ordinate

ist die Anzahl von Kernen, die auf einen bestimmten Flächenwert entfallen, angegeben. Es ist ersichtlich, daß sich die größte Häufung der Kerne bei den Flächenwerten zwischen 20 und 30 μ^2 findet.

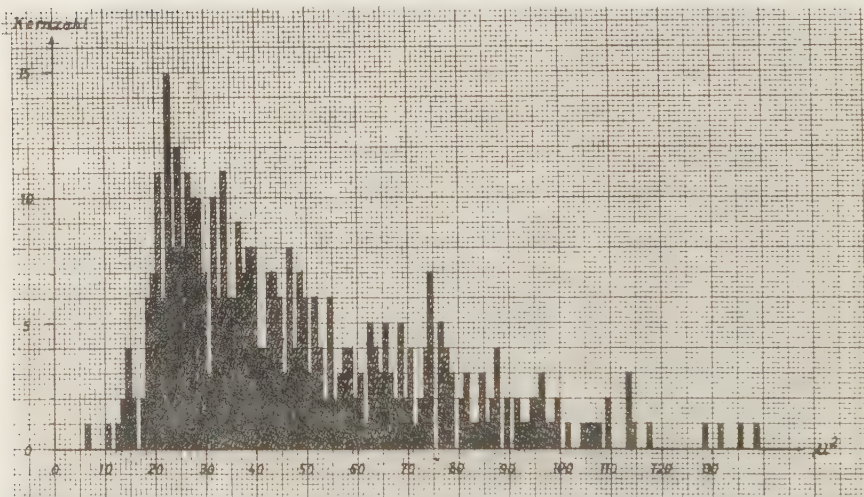


Abb. 2

Kerngrößenvariationskurve von 400 Erythroblasten

In Abb. 3 a, b und c sind die 400 Einzelwerte aus der Originalkurve (Abb. 2) nach der Methode des gleitenden Mittels bearbeitet⁺.

⁺ Für die statistische Beratung danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. G. Fuchs herzlich.

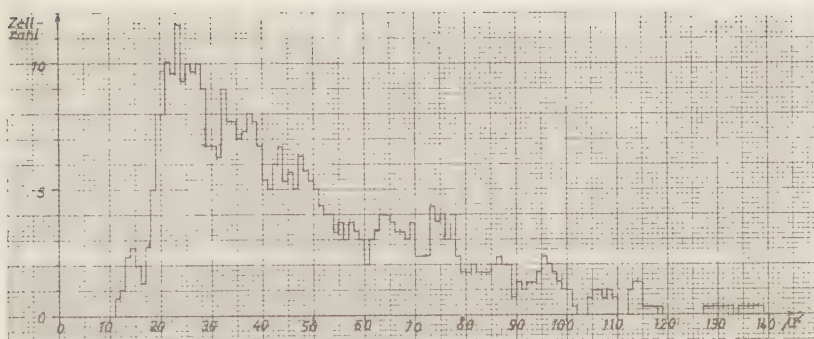


Abb. 3 a
Kerngrößenvariationskurve von 400 Erythroblasten; erstes
gleitendes Mittel

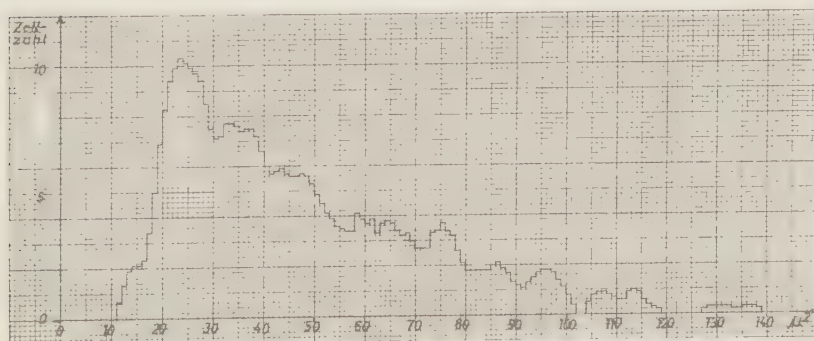


Abb. 3 b
Kerngrößenvariationskurve von 400 Erythroblasten; zweites
gleitendes Mittel

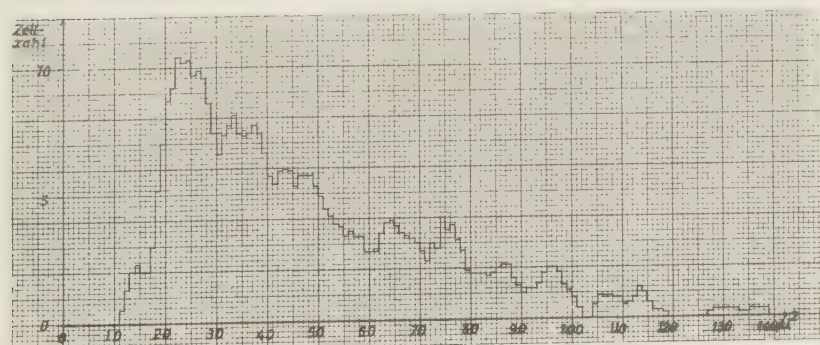


Abb. 3 c
Kerngrößenvariationskurve von 400 Erythroblasten; drittes
gleitendes Mittel

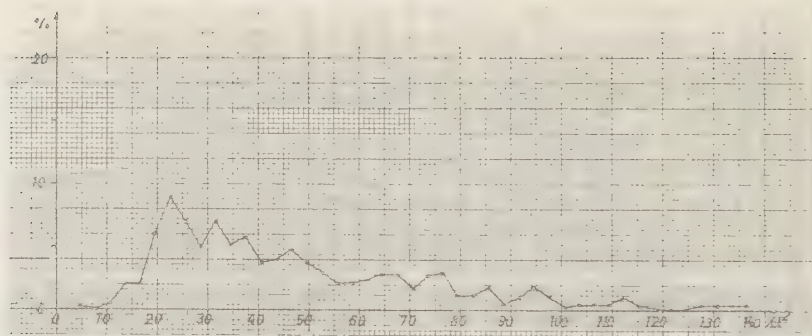


Abb. 4 a

Kerngrößenvariationskurve von 400 Erythroblasten; in Gruppen von jeweils $3 \mu^2$ zusammengefaßt und in Prozent der Gesamt 400 ausgedrückt



Abb. 4 b

Kerngrößenvariationskurve von 400 Erythroblasten; in Gruppen von jeweils $5 \mu^2$ zusammengefaßt und in Prozent der Gesamt 400 ausgedrückt

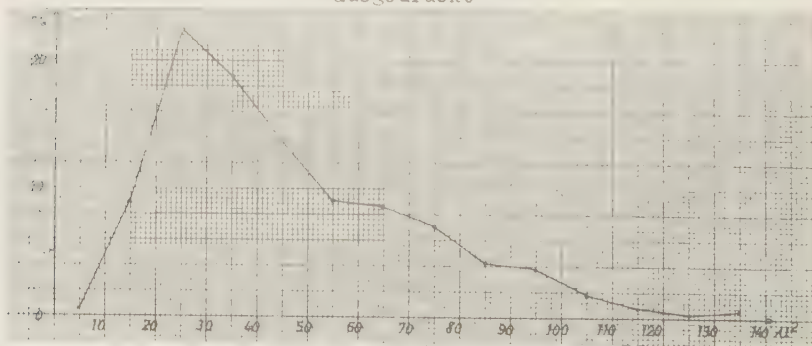


Abb. 4 c

Kerngrößenvariationskurve von 400 Erythroblasten; in Gruppen von jeweils $10 \mu^2$ zusammengefaßt und in Prozent der Gesamt 400 ausgedrückt

Bei dieser Methode wird aus j e d e m Kurvenwert und den zwei jeweils benachbarten Werten das arithmetische Mittel gebildet; demzufolge geht jeder einzelne Kurvenwert dreimal in die Mittelwertberechnungen ein. Man erhält eine gleiche Anzahl neuer Einzelwerte, die die erste Glättungskurve ergeben (Abb. 3 a). Von der ersten, mit Hilfe des gleitenden Mittels errechneten Kurve wird eine zweite Glättungskurve ermittelt (Abb. 3 b) und von dieser ausgehend wiederum eine dritte (Abb. 3 c).

Ein Vergleich der Abbildungen 2 bis 3 c zeigt, daß sich an der Kerngrößenvariationskurve mit zunehmender Glättung ca. 7 - 8 Stufen (je nach Gruppierungsweise) an konstanter Stelle deutlicher herausbilden.

Um eine Vergleichbarkeit mit den in der Literatur angegebenen Prozentualverteilungen zu erreichen, haben wir die Werte der Originalkurve (Abb. 2) weiterhin in Gruppen von $3 \mu^2$, $5 \mu^2$ und $10 \mu^2$ zusammengefaßt und in Abb. 4 a, b und c dargestellt. Dabei sind alle in einer Untergruppe enthaltenen Kerne als Prozentanteile der Gesamtzahl (400 Kerne) auf der Ordinate angegeben. Wir finden in den gleichen Kerngrößenbereichen wiederum die 7 - 8 Stufenbildungen (vergl. Abb. 4 b mit Abb. 3 c).

Klare, durch tiefe Täler getrennte Häufungsgipfel finden wir nicht.

2. Flächenverlaufsmessungen

70 Zellen sind in Abb. 5 a - d anhand von Flächenzeitkurven einzeln (mit Archiv-Nr.) dargestellt. Die planimetrisch gemessenen Zellflächen reichen von $44 \mu^2$ bis $314 \mu^2$ (Tab. 1). Die Flächenwerte können bei ein und derselben Zelle innerhalb kurzer Zeitabstände erheblich schwanken. Eine Flächenzunahme oder -abnahme am Ende der Beobachtungszeit um mehr als 10 % des Ausgangswertes bezeichnen wir als Vergrößerung bzw. Verkleinerung. Danach werden 14 Zellen mit Vergrößerung (Punktmarkierung), 21 mit Verkleinerung (Kreuzmarkierung) und 35 als gleichbleibend registriert. Es findet sich kein Zusammenhang zwischen der Beobachtungsdauer und einer bestimmten Zellflächenänderung, denn die größer und kleiner werdenden Zellen verteilen sich auf die kurzen (bis 5 Stunden, Abb. 5 a), mittleren (bis 20 Stunden, Abb. 5 b und c) und langen Beobachtungszeiten (bis 50 Stunden, Abb. 5 d).

Entsprechende Verlaufsmessungen an den Kernen der Erythroblasten ergeben 10 mal Vergrößerung, 26 mal Verkleinerung und 34 mal Gleichbleiben der Kernfläche. Die Ausgangswerte der Kernflächen liegen zwischen $16 \mu^2$ und $174 \mu^2$ (Tab. 1). Auch die einzelnen Zellkerne weisen während der Verlaufsmessungen kurzzeitige, z.T. gegenläufige Größenänderungen auf. Die Flächenänderungen der Kerne gehen in der Regel denen der Zellen parallel.

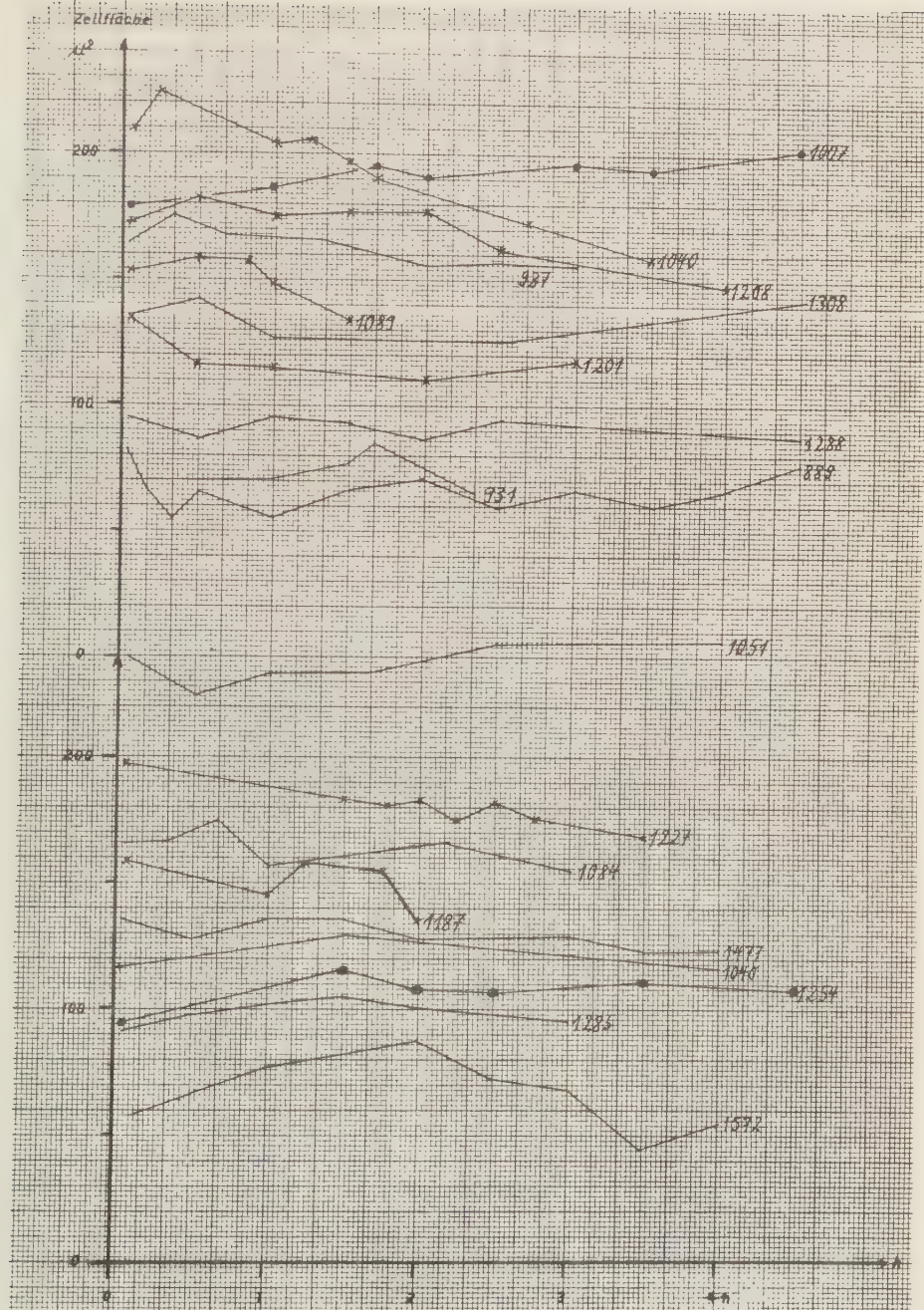


Abb. 5 a - d: Flächenzeitkurven von 70 Erythroblasten

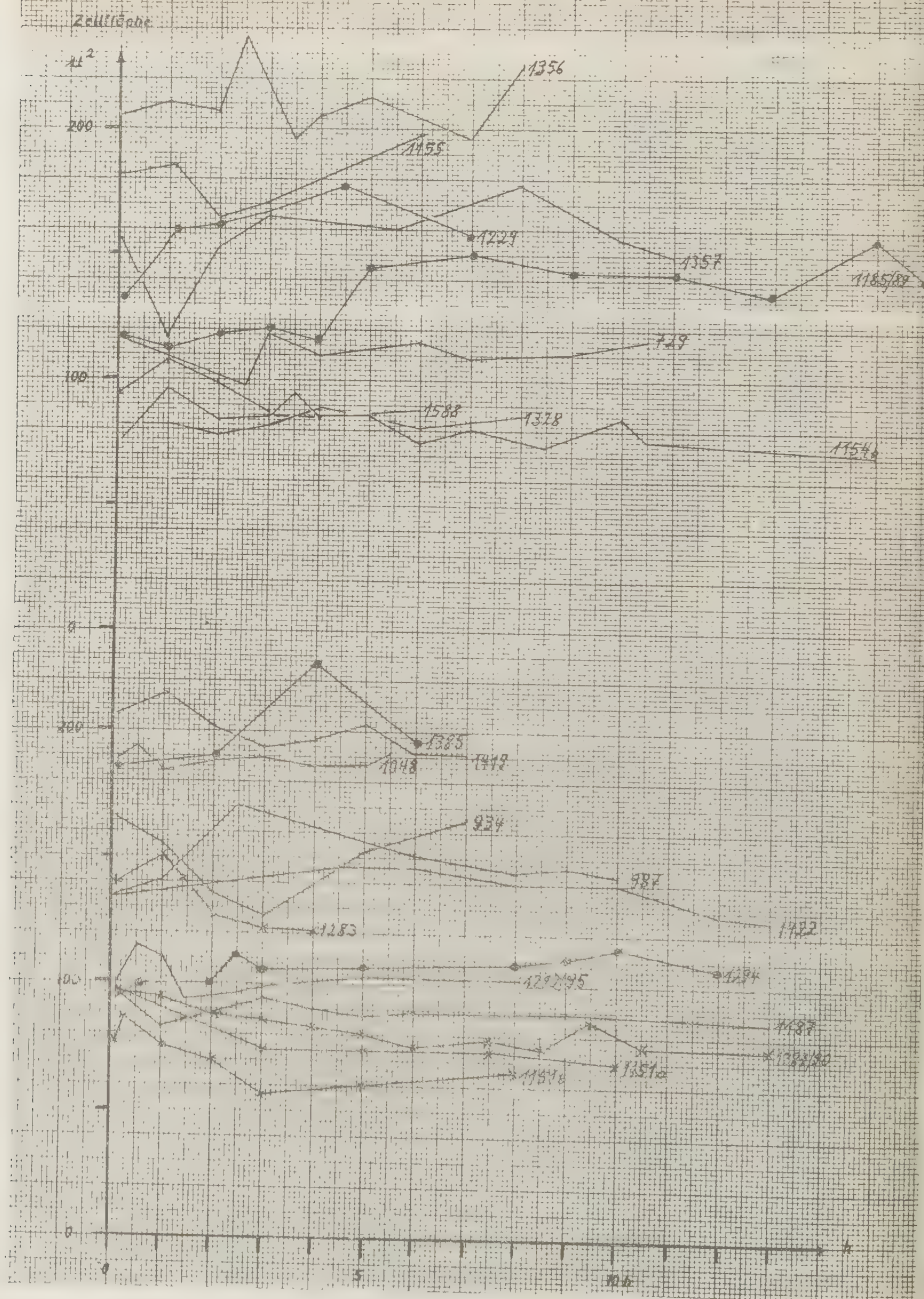


Abb. 5 b

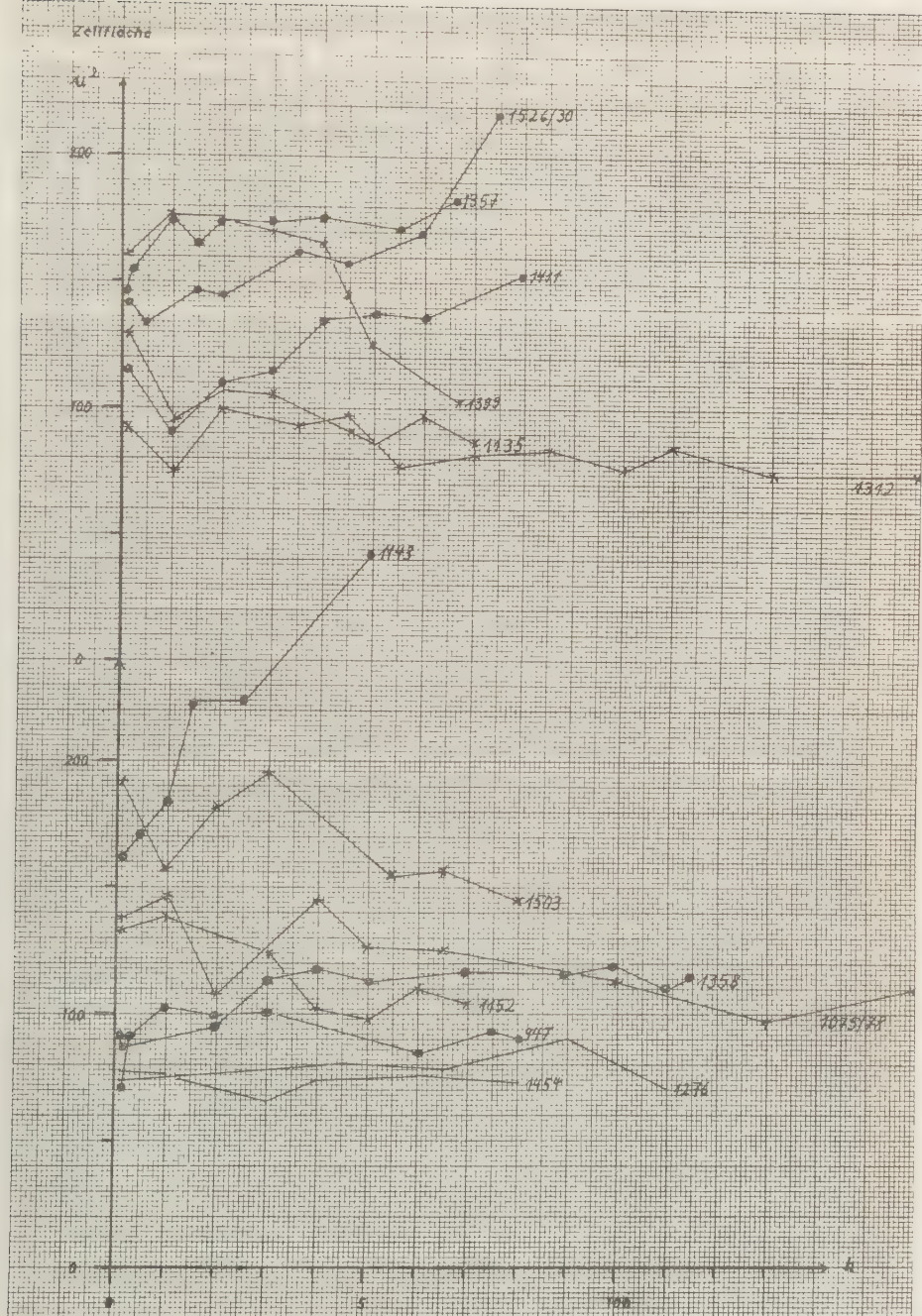
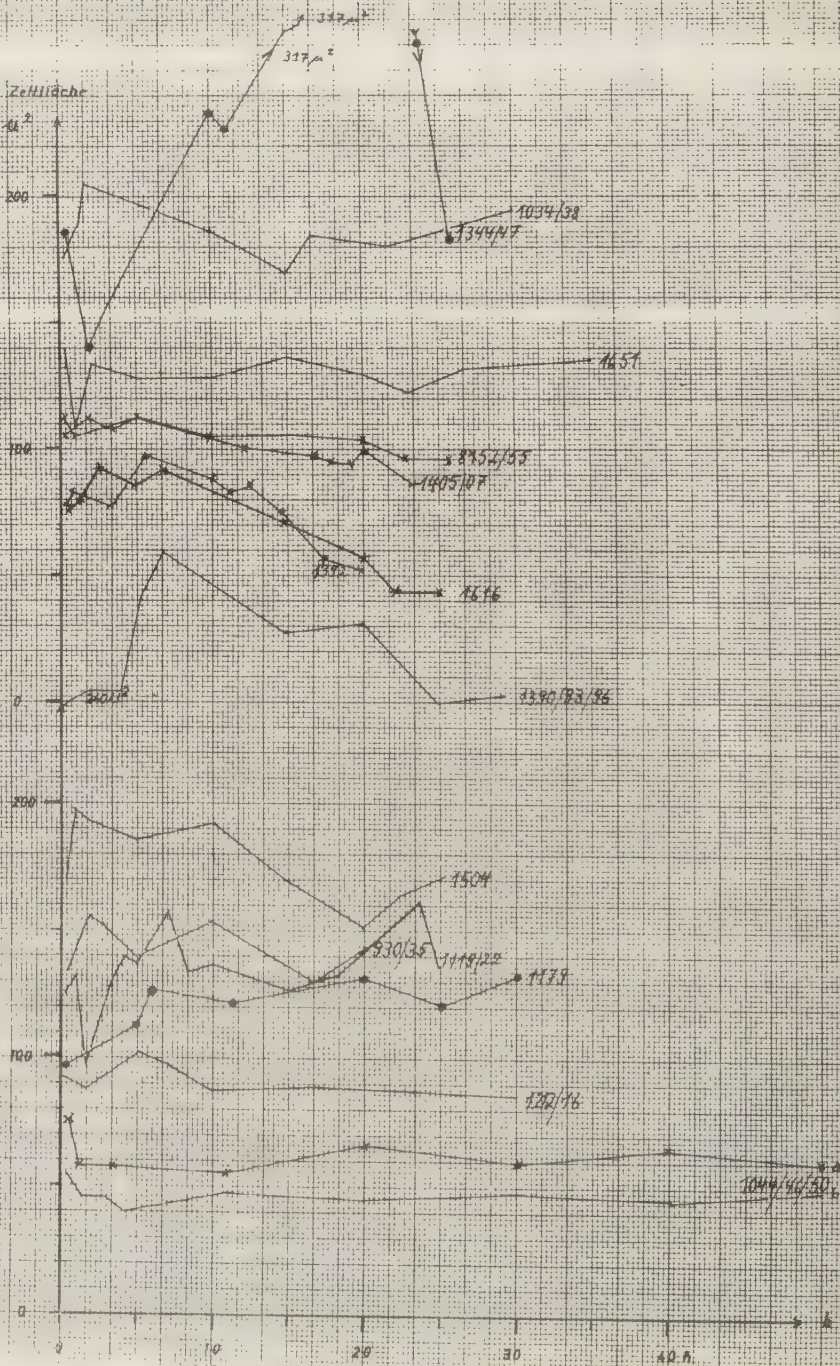


Abb. 5 c



Legende zu Tabelle 1

In Tab. 1 sind die Kerngrößen der 70 Erythroblasten in abnehmender Reihenfolge mit der jeweils dazugehörenden Archivnummer, Zellfläche, KPR⁺ und Zellart aufgeführt. In Anlehnung an die WEICKERschen Kernmaxima (K 2, Kerndurchmesser 13,0 μ ; K 1, Kerndurchmesser 10,3 μ ; K 1/2, Kerndurchmesser 8,2 μ ; K 1/4, Kerndurchmesser 6,5 μ ; K 1/8, Kerndurchmesser 5,2 μ) sind die 70 Erythroblasten in 5 Kerngrößengruppen unterteilt. Dazu werden unsere Flächenwerte auf Kernradii umgerechnet. Die Gruppengrenzwerte werden genau in die Mitte zwischen zwei Kernmaxima von WEICKER gelegt; das hat zur Folge, daß z.B. Zelle Archiv-Nr. 1044/46/50 noch zur Kernklasse K 1/4, Zelle Archiv-Nr. 1572 schon zur Kernklasse K 1/8 gehört.

Für jede Kerngruppe ist der Mittelwert der KPR, der Kern- und Zellfläche errechnet.

Die erste Kerngrößengruppe enthält ausschließlich Proerythroblasten, die zweite Proerythroblasten und Erythroblasten zu ungefähr gleichem Anteil; in der dritten Kerngrößengruppe K 1/2 finden wir nur Erythroblasten bis auf zwei Zellen, die wir nach den von RIND und STOBBE beschriebenen Kriterien als Proerythroblasten ansprechen müssen, obwohl sie eine auffallend geringe Größe haben.

⁺ Kern-Plasma-Relation

Tabelle 1

Archiv-Nr.		Kern- klasse	Kern- fläche μ^2	Zell- fläche μ^2	KPR
1	1616	Proebl.	174	314	0,55
2	1048	Proebl.	136	198	0,72
3	1034/38	Proebl. K_2	132	175	0,75
4	1344/47	Proebl.	114	189	0,60
5	1051	Proebl.	114	240	0,48
6	1155	Proebl.	108	182	0,59
Mittelwerte			<u>130</u>	<u>215</u>	<u>0,615</u>
7	1503	Ebl.	106	191	0,55
8	1356	Proebl.	105	206	0,51
9	1089	Ebl.	102	152	0,67
10	1390/93/6	Proebl.	100	179	0,56
11	1187	Proebl.	98	159	0,62
12	1385	Proebl.	97	185	0,52
13	934	Ebl.	96	167	0,57
14	1419	Proebl.	95	208	0,46
15	1227	Ebl.	94	197	0,48
16	1422	Ebl.	89	134	0,66
17	1143	Proebl. K_1	88	162	0,54
18	1229	Proebl.	88	131	0,67
19	1208	Proebl.	88	171	0,51
20	1504	Proebl.	84	170	0,49
21	1007	Proebl.	83	179	0,46
22	1075/78	Ebl.	81	137	0,59
23	1399	Ebl.	81	160	0,50
24	937	Ebl.	78	163	0,47
25	1201	Proebl.	75	133	0,56
26	1357	Ebl.	75	156	0,48
27	1477	Proebl.	71	135	0,52
28	1308	Ebl.	70	136	0,51
29	1185/89	Proebl.	69	118	0,58
Mittelwerte			<u>97,5</u>	<u>162</u>	<u>0,543</u>
30	1651	Ebl.	68	140	0,49
31	987	Ebl.	68	132	0,51
32	1357	Ebl.	68	146	0,47
33	930/35	Ebl. $K_{1/2}$	67	131	0,51
34	1135	Ebl.	66	127	0,52
35	1283	Ebl.	64	140	0,46
36	1411	Ebl.	64	118	0,54

Archiv-Nr.	Zellart	Kern- klasse	Kern- fläche μ^2	Zell- fläche μ^2	KPR
------------	---------	-----------------	----------------------------	----------------------------	-----

37	1084	Proebl.	63	156	0,40
38	729	Ebl.	60	117	0,51
39	1526/30	Ebl.	58	141	0,41
40	1212/16	Ebl.	55	92	0,60
41	1152	Ebl.	53	132	0,40
42	1289	Ebl.	53	96	0,55
43	1119/22	Proebl.	52	124	0,42
44	1040	Ebl.	50	118	0,42
45	1312	Ebl.	50	95	0,52
46	1294	Ebl.	50	94	0,53
47	1154b	Ebl.	49	76	0,64
48	1588	Ebl.	49	93	0,53
49	852/55	Ebl.	47	112	0,42
50	1151	Ebl.	47	99	0,47
51	1276	Ebl.	47	76	0,62
52	1187	Ebl.	47	95	0,49
53	1358	Ebl.	46	92	0,50
54	947	Ebl.	45	70	0,64
55	1254	Ebl.	45	94	0,48

Mittelwerte	55	112	0,502
-------------	----	-----	-------

56	1387/90	Ebl.	43	97	0,44
57	1292/95	Ebl.	43	100	0,43
58	1392	Ebl.	42	78	0,54
59	1405/07	Ebl.	41	106	0,39
60	1328	Ebl.	40	81	0,49
61	1179	Ebl.	39	95	0,41
62	1151	Ebl.	38	77	0,49
63	1454	Ebl.	36	79	0,45
64	889	Ebl.	35	81	0,43
65	1285	Ebl.	34	91	0,37
66	1040	Ebl.	34	212	0,16
67	1044/46/50	Ebl.	28	74	0,38

Mittelwerte	38	97	0,415
-------------	----	----	-------

68a	1572	Ebl.	27	59	0,46
69a	931	Ebl.	27	78	0,35
70a	1044/46/50	Ebl.	23	55	0,42
69b	931 ⁺	Ebl.	23	70	0,33
68b	1572 ⁺	Ebl.	22	76	0,29
70b	1044/46/50 ⁺	Ebl.	16	44	0,36

Mittelwerte	23	60	0,383
-------------	----	----	-------

⁺ Zelle wurde zweimal zur Messung herangezogen

3. Kern-Plasma-Relation

Zur Untersuchung der Kern-Plasma-Relation (KPR) werden die Erythroblasten nach Kerngrößengruppen unterteilt, denen wir die Maxima der WEICKERSchen Kernverteilungen zugrunde legen (siehe Tab. 1). Dazu muß aus unseren Flächenwerten der Kernradius errechnet werden. Aus jeder Gruppe wird der Mittelwert der KPR bestimmt.

K_2	KPR 0,615
K_1	KPR 0,543
$K_{1/2}$	KPR 0,502
$K_{1/4}$	KPR 0,415
$K_{1/8}$	KPR 0,383

Es ist ersichtlich, daß sich die KPR mit abnehmenden Zellflächen gesetzmäßig verringert.

4. Volumenbestimmung bei der Mitose

Aus den planimetrierten Flächenwerten zweier Erythroblasten während der Mitose wird der Zellradius bestimmt und daraus das Zellvolumen berechnet. Dazu setzen wir die Abkuglung der Zelle während der Mitose voraus, wie BOLL (1966) sie beschrieb.

Tabelle 2 zeigt an zwei Beispielen, einem Proerythroblasten und einem polychromatischen Erythroblasten, daß die Summe der Volumina zweier Tochterzellen und ihrer Kerne unmittelbar nach der Mitose etwa dem Volumen der Mutterzelle und ihres Kernes entspricht.

Tabelle 2

Archiv-Nr. 827/30	Fläche (planimetr.)	Radius (errechnet)	Volumen (errechnet)
Mutterzelle	171 μ^2	7,38 μ	1690 μ^3
Tochterzelle A	102 μ^2	5,7 μ	775 μ^3
Tochterzelle B	112 μ^2		<u>895 μ^3</u> 1670 μ^3
Mutterkern	97 μ^2	5,55 μ	715 μ^3
Tochterkern A	63 μ^2	4,48 μ	377 μ^3
Tochterkern B	50 μ^2	3,99 μ	<u>268 μ^3</u> 645 μ^3

Archiv-Nr.
1044/46/50

Mutterzelle	90 μ^2	5,35 μ	642 μ^3
Tochterzelle A	69 μ^2	4,58 μ	428 μ^3
Tochterzelle B	52 μ^2	4,06 μ	<u>282 μ^3</u> 710 μ^3
Mutterkern	51 μ^2	4,03 μ	275 μ^3
Tochterkern A	30 μ^2	3,09 μ	124 μ^3
Tochterkern B	33,8 μ^2	3,28 μ	<u>148 μ^3</u> 272 μ^3

Flächen und Volumen bei der Mitose

5. Fortbewegung

Unter den 400 Erythroblasten läßt sich am kontinuierlich ablaufenden Zeitrafferfilm nur bei einem Patienten eine gerichtete Ortsänderung an 7 Erythroblasten beobachten (Pat. Ba., akute Erythrämie, Archiv-Nr. 1392). Dabei erfolgt eine Kontraktion mit Ausstülpung von Zytoplasma, der Kern wird unter Deformierung nachgeschoben, schließlich folgt das restliche Zytoplasma nach.

6. Veränderungen an der Zelloberfläche: Blistern

Die zwischen Objektträger und Deckglas in einer dünnen Flüssigkeitsschicht flach ausgebreiteten Erythroblasten haben im allgemeinen rundlich-ovale Form. Daß diese nicht unveränderlich ist, wird deutlich, wenn sie sich unter der Einwirkung vorbeiwandernder Phagozyten und Retikulumzellen verändert: Erythroblasten sind ebenso wie Erythrozyten passiv leicht deformierbar.

Aber auch aktiv ändert sich bei einem Teil der Erythroblasten die Kontur ständig von einem geringen Vibrieren bis zu deutlich sichtbaren Kontraktionswellen und Fältern (Abb. 6 a). Von diesen, die Zelle als ganzes betreffenden Formveränderungen lassen sich lokalisierte, pseudopodienartige Zytoplasmaausstülpungen an der Zelloberfläche unterscheiden, die wir in Anlehnung an ZOLLINGER (1948) als Blister bezeichnen (Abb. 7 a).

34 von 70 beobachteten Zellen lassen das Blisterphänomen deutlich erkennen. Das Auftreten der Blister erscheint unabhängig vom Kulturalter der Zellen. Bei den Zellen mit Blisterphänomen sind zwischen Sternalpunktion und Anlegen der platten Kultur durchschnittlich 10,5 Stunden (1 bis 26 Std.) vergangen, bei der Zellpopulation ohne Blisterbildung durchschnittlich 12 Stunden (1 bis 26 Std.). Von den Proerythroblasten blisterten 81 %, bei den Erythroblasten 35 %. Obgleich sich Größe, Anzahl und Auftreten der Blister sowohl bei den verschiedenen Zellen als auch bei der Verlaufsbeobachtung ein und derselben Zelle als sehr variabel erweisen, sollen einige charakteristische Eigenschaften beschrieben werden.

A. Blistergröße

Die Größe der Blister zeigt erhebliche Schwankungen. Bei 9 Zellen beobachteten wir überwiegend Blister der Größenordnung $0,5 - 2 \mu^2$ (Abb. 6 c), die im folgenden als Mikroblisten bezeichnet werden. 21 Zellen weisen Blistergrößen zwischen 5 und $20 \mu^2$ (Abb. 6 b) auf (Makroblisten). 4 zeigen nebeneinander Blister vom großen und kleinen Typ. Die durch die Abflachung des Präparates bedingte Vergrößerung ist nicht nur für die Zellen, sondern auch für die Blister in Rechnung zu stellen.

B. Anzahl

Die Anzahl der Blister variiert zwischen 1 und 50, und bleibt während der Beobachtungszeit meist nicht konstant. Genaue Angaben sind wegen der räumlichen Beschaffenheit der Zelle nicht möglich, da die Zählung nur die scharf getroffenen Blister erfassen kann.

C. Lokalisation

Während sich einige Blister regelmäßig und wiederholt an präformierter Stelle ausbilden, zeigt die überwiegende Zahl der Blister keine Ortsständigkeit. Ein und dieselbe Zelle kann sowohl lokalisierte als auch diffus Blister aufweisen.

D. Form, Zytoplasmaabsprengungen

Während Mikroblisten in der Regel kugel- bis tropfenförmig erscheinen, ist die Morphologie der Makroblisten äußerst vielfältig; sie können breitbasig oder gestielt der Zelle aufsitzen, sie sind kugelig oder wurstförmig, kompakt oder verzweigt. Da sich ihre Kontur innerhalb

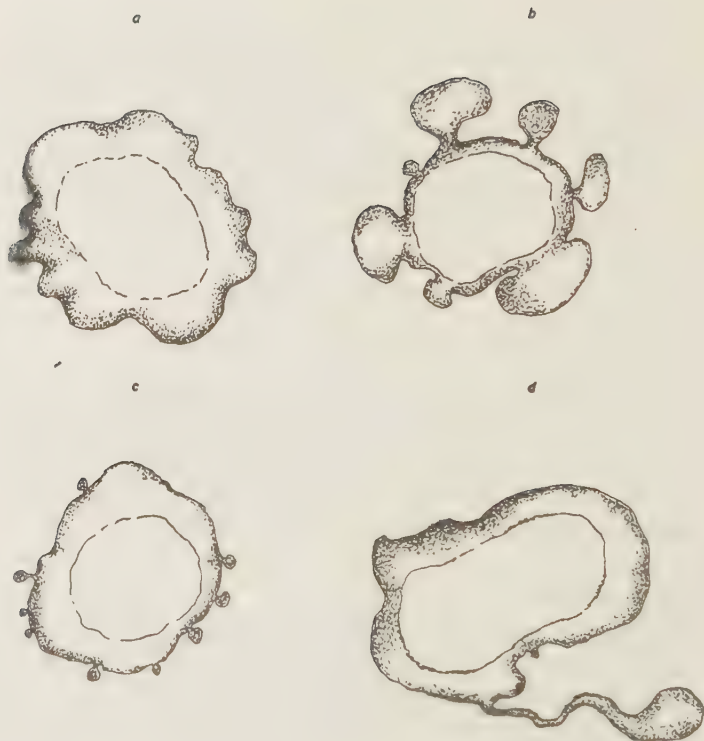


Abb. 6
Zellkonturänderungen bei Erythroblasten

- a) Kontraktionswellen
- b) Makroblister
- c) Mikroblister
- d) lokalisierter Blister



Abb. 7 a

Erythroblast mit Blistern und Glanzkörnern;
aus Knochenmark mit angeregter Erythropoese;
Archiv-Nr. 1398; Gesamtvergrößerung 2000-fach;
Beobachtungsdauer 4 Stunden

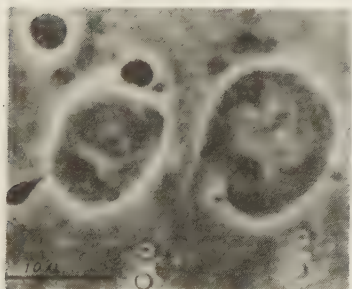


Abb. 7 b

Erythroblast mit Zytos-
plasmaabsprengung aus
megaloblast. Knochen-
mark; Archiv-Nr. 706;
Gesamtvergrößerung
2000-fach

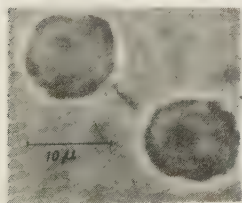


Abb. 7 c

Fädige Verbindung zwischen 2
Erythroblasten aus Knochen-
mark mit rechtsverschobener
Granulopoese; Archiv-Nr. 1439;
Gesamtvergrößerung 1700-fach

kürzester Zeit verändern kann, ist die präzise Beschreibung einer Momentaufnahme bedeutungslos. Die Blister sind durch ein Halsstück mit dem Zellzytoplasma verbunden. Dieses kann durch den kontrastnegativen perizellulären Halo überstrahlt werden oder aber so dünn ausgezogen sein, daß es sich zeitweilig der phasenoptischen Darstellung entzieht. Dennoch kommt es in der Regel zum Zurückfließen des Blisterinhaltes in die Zelle. Selten kommen Blister zur Beobachtung, die sich mehr als 5μ (u.U. bis 20μ) von der Zelloberfläche entfernen (Abb. 6 d). Wenn dabei die Zytoplasmaverbindungen temporär nicht sichtbar sind, so scheint die Absprengung bereits vollendet. Dabei ist jedoch stets auffällig, daß die Blister mit tanzenden Bewegungen wie gefesselt jeweils nur um die Region der Zelloberfläche kreisen, aus der sie hervorgegangen sind. Zwischenzeitlich werden unter Umständen ca. 1μ dünne fädige Zytoplasmaverbindungen sichtbar, die tatsächlich eine Anheftung der Blister bestätigen. Meistens kommt es im weiteren Verlauf unter Verdickung der fädigen Verbindung wieder zur Einbeziehung der Blister in die Zelloberfläche (z.B. Archiv-Nr. 1654), lediglich in zwei Fällen (Archiv-Nr. 706, 1469) blieben Zytoplasmaabsprengungen bis Filmschluß bestehen (Abb. 7 b).

E. Zeitlicher Ablauf des Blisterns

Die Entstehungszeit eines Blisters bestimmter Größe ist je nach Zellaktivität verschieden. Sehr aktive Zellen benötigen etwa 15 sec, um einen Blister von $7\mu^2$ aus- und wieder rückzubilden, während weniger aktive Erythroblasten hierfür mehrere Minuten benötigen. Aber auch bei ein und derselben Zelle werden einzelne Blister beobachtet, die unter undulierenden Bewegungen etwa 5 Minuten annähernd konstant groß bleiben, während gleichzeitig an anderen Stel-

len der Zelloberfläche Blister in 30 sec Intervallen entstehen und vergehen.

Bei 19 Zellen verläuft die Blisterbildung während der gesamten Beobachtungszeit kontinuierlich ohne differenzierbare Schwankungen der Bewegungsaktivität. Bei den übrigen 15 Zellen lassen sich deutlich Phasen der Ruhe und der Blisterbildung unterscheiden, ohne daß dabei durchgehende Gesetzmäßigkeiten erkennbar wären. Einmal erfolgt auf mehrere Stunden Ruhe kurzzeitige Blisteraktivität, ein anderes Mal auf kurzzeitige Ruhe stundenlange Aktivität. Bei 8 von den 34 Zellen mit Blisterphänomen entsteht durch die Zeitrafferbeobachtung der Eindruck eines Wechsels von Ruhephasen und blisteraktiven Phasen. Dabei lassen sich alle Übergänge von Motilitätsruhe und geringer bis stärkerer wellenförmiger Oberflächenaktivität bis hin zur Bildung verschieden großer und frequenter Blister registrieren. Der Beginn einer Blisterphase ist durch eine sprunghafte Flächenverkleinerung (Abkuglung der Zelle, Kontraktion), der Beginn einer Ruhephase durch eine Vergrößerung (Ausbreitung der Zelle) gekennzeichnet.

Die zeitliche Analyse der Phasenabläufe ergibt bei den verschiedenen Zellen keine Übereinstimmung; auch die Phasenzeiten der gleichen Zelle variieren stark. So finden wir z.B. an einer über 29 Stunden verfolgten Zelle intermittierend 39 Phasen der Blisteraktivität und der Ruhe. Dabei dauert die kürzeste blisteraktive Phase 2 Minuten, die längste 39 Minuten; die kürzeste Ruhephase 3 Minuten, die längste 105 Minuten. Wechsel und Verteilung der kurzen und langen Phasen sind regellos (Archiv-Nr. 1034/38).

F. Beweglichkeit

Die Blister sind, sei es als Folge von Plasmaströmungen oder von Membranaktivitäten, selbst beweglich. Die ständigen Konturänderungen lassen sich besonders gut an großen, ortsständigen Blistern beobachten (z.B. Archiv-Nr. 806). Die Blisteraktivität führt nicht zur Fortbewegung der Zelle.

Bei Mikroblistern und bei vereinzelt auftretenden ortsständigen Blistern ist die Differenzierung von Zelloberfläche und Blister meist einfach, während diffus auftretende multiple Makroblistern zuweilen das gesamte Zytoplasma in sich aufnehmen, so daß sich das Bild eines nur von Blistern umgebenen Zellkernes ergibt (z.B. Archiv-Nr. 1385). Die Zytoplasmaströmung in die Blister und wieder zurück in die Zelle läßt sich in einigen Fällen sehr gut anhand phasenpositiver Zytoplasmaorganellen verfolgen.

Von dem Blisterphänomen zu differenzieren sind starre, blisterähnliche Gebilde, die an haemolysierten Erythroblasten entstehen und als Potozytose bezeichnet werden (RIND, 1963; BOLL, 1963).

7. Zytoplasmaeinlagerungen

Feinkörnige, mäßig phasenpositive Granula können vereinzelt bis sehr zahlreich ubiquitär im Zytoplasma auftreten mit besonderer Konzentration im Bereich des Zytozentrums. Es handelt sich um Mitochondrien. Ihre Gestalt ist rundlich und stäbchenförmig, der Durchmesser schwankt zwischen 0,3 μ und 0,7 μ . Die größeren Mitochondrien (0,7 μ) treten häufig erst im Verlaufe der Beobachtung durch größere Dichte deutlich hervor. Verfolgt man sie

längere Zeit, so zeigen sie mit zunehmender Bildfolge meist eine Größenzunahme sowie das Auftreten eines phasenschwächeren bis phasennegativen Innenhofes. Es sind schließlich stark phasenpositive Ringe (Abb. 7 a) zu erkennen, die als Glanzkörner (RIND, 1963; STOBBE, 1960; BEISSEL, 1969) bezeichnet werden. In der Regel nimmt sowohl die Anzahl als auch die Größe der Glanzkörner während der Verlaufsbeobachtung irreversibel zu. Bei über 20 Zellen aus dem gesamten Erythroblastenmaterial konnte solch Übergang aus kleinen phasenpositiven Partikeln in Glanzkörner beobachtet werden. Bei 43 von 70 über längere Zeit untersuchten Erythroblasten traten zwischen 1 und 28 Glanzkörner mit einem Durchmesser zwischen 0,5 μ und 1,5 μ auf; dabei kommt der Zahlenangabe lediglich ein Vergleichswert zu, da sich nur jene Partikel beschreiben und zahlenmäßig erfassen lassen, die gerade in der optischen Ebene angetroffen werden. Wir sehen sehr wechselnde Bilder mit verschwindenden und neu auftretenden Glanzkörnern, ohne daß hier tatsächlich morphologische Veränderungen zugrunde liegen müßten. In Kernnähe lassen sich die Partikel infolge des größeren Zelldurchmessers (siehe Abb. 1) weniger gut identifizieren und verfolgen als in der stärker abgeflachten Zellperipherie. Traubenförmige Aggregate von Glanzkörnern, die meist in phasennegativen Zytoplasmaräumen eingebettet liegen, machen durch ihre Bewegungen sowie durch die zu beobachtenden Überschneidungen der einzelnen Glanzkörner die räumlichen Verhältnisse anschaulich.

Die Glanzkörner bewegen sich mit dem Plasmastrom in Blister hinein und von hier wieder in die Zelle zurück (z.B. Archiv-Nr. 901/902, 1055). Sehr große Glanzkörner, die besonders in absterbenden Zellen beobachtet werden,

können ihren phasenpositiven Außenwall verlieren und schließlich das Bild runder Vakuolen bieten. Glanzkörner und Vakuolen sind noch nach der Haemolyse der Zellen relativ lange erkennbar.

22 der 70 Erythroblasten weisen Vakuolen auf. Auch Zahl und Größe der Vakuolen vermehren sich während der Beobachtungszeit (RIND und STOBBE, 1957). Sie liegen als überwiegend rundliche, optisch leer erscheinende Räume im Zytoplasma eingebettet. Sie weisen im Gegensatz zu Glanzkörnern keinen Rand auf. Der Durchmesser der Vakuolen schwankt zwischen 0,5 und 3,0 μ , die Zahl zwischen 1 und 20 (zur Kritik der Partikelzählung siehe oben). Häufig entstehen Vakuolen im Zuge der Zelldegeneration. Sie können auch wabige Aggregate - MOESCHLIN beschrieb sie als helle Kugelhäufchen - bilden oder konfluieren. Verkleinerung oder Verschwinden der Vakuolen wurde nicht beobachtet. Die Vakuolen gelangen mit der Zytoplasmaströmung an die Zellmembran heran und in die Blister hinein. Ob sie durch Exkretionsvorgänge oder Pinozytose die Zellgrenze passieren können, ist wegen des ebenfalls phasennegativen perizellulären Halos schwer zu beurteilen; wir haben keinen solchen Fall beobachtet.

Den Vakuolen ähnlich sind große (Durchmesser bis 6 μ) zirkumskripte Aufhellungsbezirke, die sich während der degenerativen Zellysis im Zytoplasma ausbilden können. Sie erscheinen wie helle Flüssigkeitstropfen in einer dunkleren Phase, sie zerfallen oder fließen zusammen.

8. Fädige Verbindungen zwischen Erythroblasten

Interzelluläre Verbindungen werden bei paarig oder in Form von Nestern dicht zusammengedrängten Erythroblasten häufig beobachtet. Wir haben sie unter 400 Zellen 13 mal gesehen. Durch den perizellulären phasennegativen Hof sind sie oft nur schwach zu erkennen. Kommt es zu einem Auseinanderweichen der verbundenen Zellen, z.B. durch Interaktion einer Wanderzelle, so wird die Interzellularbrücke bis auf einen dünnen Protoplasmafaden ausgezogen. Sie macht den Eindruck eines Gummifadens, der sich bei erneuter Annäherung beider Zellen unter Verdickung wieder zusammenzieht (z.B. Archiv-Nr. 909, 1137, 1126, 1330, 1439). Bei günstigen optischen Bedingungen sind eventuell noch 0,3 μ dicke Verbindungsfäden erkennbar, während vielfach die zueinander gekehrten zipfligen Zytoplasmaausziehungen zweier Zellen den einzigen Hinweis auf eine fädige Verbindung liefern. Oft tritt dann die Verbindung nur zwischenzeitlich in Erscheinung. Die längsten beobachteten Verbindungsfäden zwischen 2 Erythroblasten überbrücken 20 μ ; sie zeigen eine Art Eigenaktivität, können knotige Ausstülpungen oder klumpige Zytoplasmaverschiebungen aufweisen (Archiv-Nr. 1439). Die fädigen Protoplasmaverbindungen werden meist zwischen 2 Zellen gleichen Entwicklungsstadiums beobachtet.

9. Degenerationszeichen

Die Degenerationszeichen sind an den absterbenden Erythroblasten nicht immer gleich ausgeprägt, so daß verschiedene Degenerationsbilder zu Gesicht kommen.

Am Zellkern beobachten wir eine Auflösung der Chromatinstruktur mit deutlich hervortretenden Nukleoli, Kernwandhyperchromatose, Kernpyknose mit Einziehungen der Kernmembran, Karyolyse oder Karyorhexis als verschiedene Degenerationszeichen.

Das Zytoplasma hellt sich bei der Degeneration zunächst etwas auf, die kleinen granulären Plasmaorganellen ($0,3\ \mu$) verschwinden und statt dessen treten größere ($0,5 - 1,0\ \mu$), stark phasenpositive Granula deutlich hervor. Es kommt zur Ausbildung von Vakuolen, bereits vorhandene Glanzkörner vergrößern sich, neue entstehen. Die Zytoplasmamotilität nimmt im Verlauf der Degeneration ab und hört schließlich mit der finalen Homogenisierung des Zellinhaltes ganz auf. Während des Homogenisierungsvorganges, d.h. der Lysis des gesamten strukturierten Zytoplasmas, wird dieses etwas dunkler, mit größter Dichte im Bereiche der Zellperipherie. Nach einer temporären Verkleinerung kommt es zu einem Auseinanderfließen der absterbenden Zellen. Diese flächige Ausbreitung erfolgt ringsum geometrisch gleichmäßig als Haemolyse oder in Form zirkumskripten, blasenartiger Plasmavorwölbungen, die wir nach ZOLLINGER (1948) und RIND (1963) als Potozytose bezeichnen. Die Zelleichen verfallen entweder in toto einer bis zu Stunden andauernden Lysis (langsames Verdämmern) oder es kommt kurzfristig (z.B. innerhalb von 20 sec) zu einer Fragmentation (Archiv-Nr. 1051, 1256, 1294, 1425). Bei einigen dieser Zellen bildet sich

eine bizarre, aus fädigen Plasmaverdichtungen bestehende Armierung. Eine ausgeprägte Spindelform war bei 3 Zellen final zu beobachten (Archiv-Nr. 1277, 1392, 1399).

DISKUSSION

Auf die Bedeutung des Phasenkontrastmikroskopes zur Untersuchung lebender Objekte und ihrer sichtbaren Funktionsäußerungen soll nicht eingegangen werden.

Nach RIND (1963) sind im Phasenkontrastmikroskop keine exakten Größenmessungen möglich, da die tatsächliche Zellgrenze innerhalb des Lichthofes liegt. Wir haben jeweils am inneren Rand des die Zelle umgebenden Halos, der sich scharf phasenpositiv abbildet, gezeichnet und erhielten dadurch effektiv etwas kleinere, aber vergleichbare Werte. Ohnehin können die Flächenwerte, die bei den stark abgeflachten Zellen gemessen werden, keine absoluten Größen darstellen. SENDA und RUHRMANN fixierten Präparate in Plexiglas und konnten an Querschnitten die Zelldicke messen. Die Dicke von Knochenmarkzellen im gefärbten Ausstrich fand RUHRMANN (1966) zwischen $0,7\ \mu$ und $3,1\ \mu$; eine besondere Häufung ergab sich zwischen $1,0\ \mu$ und $2,1\ \mu$. Diese Verhältnisse scheinen auch für die Lebendbeobachtungen zuzutreffen, denn die Kerngrößen der Tabelle 1 stimmen mit den von RUHRMANN im gefärbten Ausstrich erhaltenen Größen auffallend überein. Da aber bei der Methode der "platten Kultur" infolge unterschiedlicher Kammerhöhe bzw. verschiedener Funktionszustände der Zellen ihre Dicke nicht konstant ist, können von Zellflächen ausgehend keine Volumina berechnet werden. Volumenberechnungen erscheinen einzig an während der Mitose abgekugelten Zellen möglich; dies zeigt auch die Volumenhalbierung der Tabelle 2.

ad 1. Kerngrößenvariation

Die Kerngrößenmessungen an in vitro überlebenden Erythroblasten stimmen weitgehend mit den an gefärbten Ausstrichpräparaten erhobenen Befunden (WEICKER, 1956 - 1967; RUHRMANN, 1966; GEBAUER, 1970) überein.

Zum Vergleich sind unsere Ergebnisse (siehe Abb. 4 c) und die von WEICKER (1956) und GEBAUER (1970) gefundenen prozentualen Kerngrößenvariationskurven in Abb. 8 zusammengestellt; dabei wurden die in der Literatur angegebenen Durchmesserwerte auf Flächenwerte umgerechnet.

Es ist ersichtlich, daß die Übereinstimmung sowohl den Bereich der Größenvariation ($6 - 138 \mu^2$) als auch in etwa die prozentualen Anteile der verschiedenen großen Kerne betrifft.

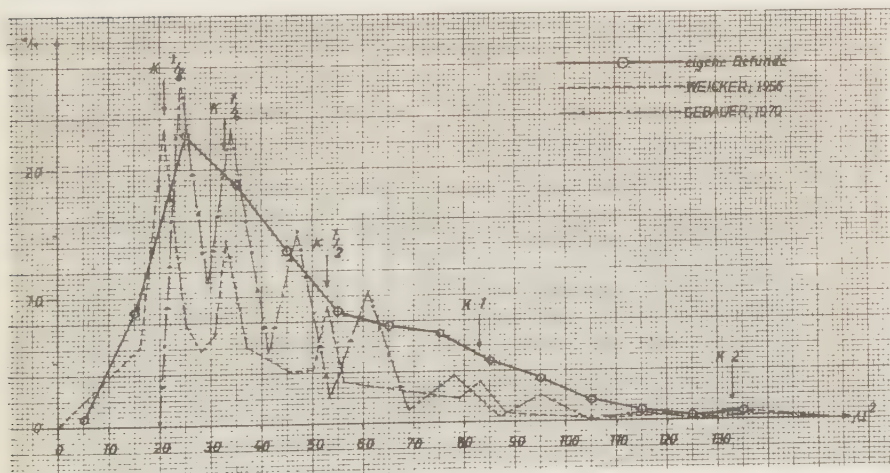


Abb. 8
Kerngrößenvariationskurven

Im Unterschied zu WEICKER und GEBAUER finden wir jedoch keine durch tiefe Täler abgrenzbaren Gipfel. Die an unserer Kerngrößenvariationskurve konstant auftretenden Stufen (siehe auch Abb. 3 c) sind nicht eindeutig im Sinne von Häufungsgipfeln zu interpretieren, vielmehr spricht der wellige Kurvenabfall nach rechts zu den größeren Vorstufen hin für fließende Übergänge zwischen den verschiedenen Reifungsstufen. Auch RUHRMANN (1966) konnte an 2000 Erythroblasten die WEICKERschen Kerngrößenklassen nicht reproduzieren. Nach MÜLLER (1968) ist die Konstanz der Kerngrößen nicht mit der nachweisbaren interphasischen Substanzzunahme vereinbar, so daß die von LAJTHA (1960) postulierten Reifungsstufen nicht durch Kerngrößenklassen beschrieben werden können.

Der steile Abfall unserer Verteilungskurve nach links spricht dafür, daß sich die Erythroblastenkerne von $20 \mu^2$ ($K_{1/8}$) regulär nicht mehr durch Halbierungsteilungen vermehren. Kerne zwischen 6 und $20 \mu^2$ treten bei älteren Kulturen (über 48 Stunden) gehäuft auf und werden durch den schrumpfenden Effekt in der Kultur erklärt (GEBAUER, 1970).

ad 2. Flächenverlaufsmessungen

Die 70 Erythroblasten lassen während mehrstündiger Beobachtung keine einsinnige Vergrößerung oder Verkleinerung erkennen. Vergrößerung zeigen 20 %, Verkleinerung 30 %, 50 % der Zellen bleiben gleich. Diese Zahlen sind in Zusammenhang mit dem Einteilungskriterium (± 10 % des Ausgangswertes bei Ende der Beobachtungszeit) zu sehen. Betrachtet man außerdem die zwischenzeitlich auftretenden Gipfel in den Flächenzeitkurven, so wird deutlich, daß eine tatsächliche Vergrößerung über längere Zeit nicht, eine Verklei-

nerung nur bei wenigen Zellen verifizierbar ist. Der Aussagewert der Ergebnisse wird weiterhin durch die inkonstanten Bedingungen bei verschiedenen Flächenmessungen eingeschränkt. Bereits geringfügige degenerative oder funktionelle Veränderungen, die die Zellkontur betreffen, können Abweichungen in der Flächenzeitkurve bedingen. Das Zytoplasma einer Zelle in platter Kultur liegt nicht in konstanter Dicke und damit gleichbleibender Fläche vor. BUCHER und KLÖTI (1955) stellten fest, daß das Zytoplasma stellenweise verhältnismäßig dick, stellenweise aber ganz dünn und pseudopodienartig ausgebreitet ist. Stereoelektronenmikroskopische Aufnahmen (JENSEN, 1966) bestätigen dieses Bild. Abkuglung oder Abflachung einer Zelle sowie die Blisterbildung führen zu variablen Meßwerten.

Die Verlaufsbeobachtungen an den Erythroblastenkernen ergeben ebenfalls keine einsinnig gerichteten Flächenänderungen. 14 % vergrößern sich, 37 % verkleinern sich, und 49 % der Kerne bleiben gleich. JAKOBI (1925) stellte die Hypothese des rhythmischen Wachstums von Kernsubstanz auf. WERMEL und PORTUGALOW (1935) konnten das rhythmische Anwachsen lebendiger Kernmasse an Bindegewebskulturen des Hühnerembryo nachweisen. BUCHER und KLÖTI (1955) überprüften diese Ergebnisse an Osteoblastenkulturen in vitro; sie beobachteten dieselben unmittelbar nach erfolgter Mitose und fanden einen postmitotischen starken Wachstumschub, gefolgt von einer Periode verlangsamten Wachstums. An Granuloblasten sah BOLL (1966) eine Vergrößerung um $1/3$ während der Generationszeit. Hinsichtlich dieser Befunde wäre bei unseren Ergebnissen die Kernvergrößerung von besonderem Interesse. Wir stellen jedoch bei den Verlaufsmessungen ein "rhythmisches" Kernwachstum nicht fest, wie es WEICKERS Annahme entspricht.

Auch die 2 unmittelbar postmitotisch einsetzenden Flächenzeitkurven (Archiv-Nr. 1044/46/50) lassen den beschriebenen Wachstumsschub nicht erkennen.

ad 3. Kern-Plasma-Relation

Vergleicht man die erhaltenen Werte mit denen von RUHRMANN und WEICKER (Tabelle 3), so ist festzustellen, daß sich die KPR von den jüngsten Vorstufen bis zu den reifsten schrittweise von höheren zu niederen Werten verringert, der Zelleib wird im Vergleich zum Kern immer größer. Es fällt aber sofort auf, daß die KPR-Werte der Phasenkontrastkulturen sich in einem anderen Bereich befinden; alle Werte liegen niedriger, d.h. das Zytoplasma der Erythroblasten ist im Vergleich zum Kern größer. Unsere Kerngrößen (Tabelle 1) hingegen stimmen mit denen, die RUHRMANN in der Ausstrichtechnik erhalten hat, absolut überein. Die größeren Zytoplasmawerte werden dadurch verständlich, daß das Zytoplasma in der platten Kultur im Verhältnis zum Kern noch flacher ausgebreitet ist als im Ausstrichpräparat, wie es BESSIS (mündliche Mitteilung BOLL) bei Segmentkernigen im Stereoscan darstellen konnte.

Tabelle 3

Kerndurchmesser (μ)	Säugling Ausstrich (RUHRMANN)	Erwachsener Ausstrich (WEICKER)	Erwachsener Phasenkon- trastkultur
13,0	0,809	0,790	0,615
10,3	0,775	0,775	0,543
8,2	0,74075	0,740	0,502
6,5	0,675	0,690	0,415
5,2	0,609	0,640	0,383

Kern-Plasma-Relation

ad 4. Volumenbestimmung bei der Mitose

Wie BOLL (1966) an Granuloblasten beschrieb und AUST (1968) an Plasmazellen zeigen konnte, befindet sich die Zelle während der Mitose und kurz nachher in abgekugelmtem Zustand. Als Beweis dafür wird die sprunghafte Verkleinerung der Zelle, ein breiterer Phasenkontrastring sowie die kreisrunde Begrenzung der Zelle angesehen (BOLL, 1966, S. 46). Die Tatsache, daß sich unsere aus den Flächenwerten errechneten Volumina der 2 Tochterzellen zu dem Volumen der Mutterzelle ergänzen, spricht für diese Hypothese. Obwohl bei der Methode der "platten Kultur", durch die jeweils unterschiedliche Dicke des Koagulums bedingt, die Kammerhöhe nicht gemessen bzw. konstant vorausgesagt werden kann, muß aus unseren Beobachtungen die Möglichkeit der Abkuglung der Zelle angenommen werden.

ad 5. Fortbewegung

Der einzige Fall gerichteter Ortsänderung findet sich bei einem Patienten mit akuter Erythraemie (Di Guglielmo). Da bei dieser Erkrankung die unspezifische Esterase-Reaktion positiv ausfällt, ist ein Zusammenhang zu diskutieren.

ad 6. Veränderungen an der Zelloberfläche: Blistern

Erythrozyten werden mit einem flüssigkeitsgefüllten Sack, der leicht formveränderlich ist, verglichen und können durch Spalten zwischen Sinusendothelien von 2 - 3 μ Breite hindurchgelangen, wie es in der Milz nachgewiesen wurde (SCHMID-SCHÖNBEIN, 1969; FUNG und TONG, 1968). Ebenso lassen sich Erythroblasten durch äußere Kräfte, wie vorbeiwandernde Phagozyten und Lymphozyten, passiv

stark deformieren, um dann sofort wieder ihre ursprüngliche Gestalt anzunehmen.

Die Zellen der roten Reihe, insbesondere die Proerythroblasten sind in Nährlösungen zur aktiven Ausbildung pseudopodienartiger Zytoplasmaausstülpungen befähigt. Sie können lokalisiert oder regellos wechselnd an der ganzen Zelloberfläche entstehen. Sofern es sich um kurzzeitig hervor- und zurücktretende Zytoplasmablasen handelt, kann dieser Vorgang in Anlehnung an ZOLLINGER treffend als Blisterphänomen bezeichnet werden. Eine andersartige "bubbling-like activity of the cell membrane" (ROSE, 1964) tritt in verschiedensten Gewebekulturen auf und wird in der Literatur nach den Erstbeschreibern (COSTERO und POMERAT, 1951, zit. n. ROSE) als Zeliosis beschrieben. Die von ZOLLINGER vorgeschlagene Synonymbezeichnung Potozytose ist nicht für das Blisterphänomen anwendbar, da Potozytoseblasen während der Haemolyse irreversibel an der Zelloberfläche hervortreten, homogenisiertes Zytoplasma enthalten und damit als degeneratives Zeichen gewertet werden (RIND, 1963; BOLL, 1966, 1968).

Ursachen und Vorkommen der Blisterbildung sind nur unzureichend bekannt. ROSE (1964) zitiert mehrere Autoren, welche durch Agentien wie EDTA, UV-Licht, Schwermetalle, Aktinomycin D, hydrostatischen Druck sowie Leuchtgas, die sie auf Kulturmedien einwirken ließen, an verschiedenen Kulturzellen Zelioseblasen provozieren konnten. ZOLLINGER beobachtete die Blisterbildung jeweils 3 - 4 Minuten nach Ansetzen frischer Zellsuspensionen. Er fand, daß der pH-Wert und die Konzentration des Mediums den Prozess der Blisterbildung entscheidend beeinflussen. Unsere Ergebnisse lassen keine signifikante Beziehung zwischen Kultur-

alter und Blisterbildung erkennen. Zusätze zu dem bei BOLL (1966) angegebenen Kulturmedium verwendeten wir nicht.

BOLL (1966) beobachtete im Phasenkontrastmikroskop in der platten Kultur Blisterbildung an während der Mitose absterbenden Granuloblasten sowie transitorisch während der Anaphase und Telophase von sich vollständig teilenden und nicht degenerierenden Granuloblasten. LETTRE (zit. n. BOLL) führt diese Erscheinung auf akuten O_2 -Mangel der Zelle zurück, der durch hohen Energieverbrauch hervorgerufen wird.

Über die Bedeutung des Blisterphänomens besteht keine Einigkeit. Diskutiert wird eine Oberflächenvergrößerung, die mit Flüssigkeitsaufnahme und Sekretion in funktionellem Zusammenhang steht (ZOLLINGER, ROSE). Phasenkontrastmikroskopisch konnten wir an Erythroblasten weder Pinozytose- noch Sekretionsvorgänge bestätigen. Vakuolen und granuläre Zytoplasmaeinschlüsse ließen sich zwar häufig bis in die Blister hinein verfolgen, passierten jedoch nicht die Membran, sondern kehrten regelmäßig in das Zytoplasma der Mutterzelle zurück.

Die Blisterbildung an den Erythroblasten kann phasisch ablaufen, bei der uns vorliegenden Bildfolge im Zeitraffer von 3 - 4 Bildern pro Minute kann jedoch kein Anspruch auf eine exakte zeitliche Analyse der Blistervorgänge erhoben werden. Im Gegensatz zu ZOLLINGER beobachteten wir vor der Entstehung eines Blisters nicht den beschriebenen Hohlraum im membran-nahen Zytoplasma. Auch konnten wir niemals eine Grenzmembran zwischen Blisterinhalt und Zytoplasma erkennen, und der Blisterinhalt unterschied sich nicht von dem randständigen Zellzytoplasma. Die Beobachtung, daß bei unveränderter Kammerhöhe 15 Zellen wechselnd

Phasen der Blisterbildung und der Ruhe aufweisen, spricht gegen eine Abhängigkeit der Blisterbildung von der Kammerhöhe.

HABELMANN beschrieb 1940 bei peripherer Poikilozytose an Proerythroblasten, Makroblasten und Megaloblasten in Knochenmarkausstrichen pseudopodienartige Ausstülpungen mit nachfolgender Abschnürung und folgerte hieraus die Knochenmarkgenese der Poikilozyten. Zu denselben Ergebnissen kamen SCHULTZ und BUDING (1940) bei einem Fall von perniziöser Anaemie. Von diesen Befunden ausgehend formulierten BOSTRÖM (1944) und PLUM (1949) eine neue Hypothese für die Normozytenentstehung, da ihnen nach rechnerischen Erwägungen die Erythrozytenproduktion durch Teilungen unzureichend erschien. Falls es zu Zytoplasmaabsprengungen an noch nicht zur Kernausstößung befähigten Erythroblasten kommt, so wird dies jedoch in neueren Untersuchungen (BOLL, 1968) lediglich als eine Art Notfallsreaktion bei akutem O_2 -Mangel aufgefaßt. Nachdem STOBBE (1960) solche Absprengungen im Bild festgehalten hatte, schreibt er 1967: "Bei längerer Beobachtung eines Blickfeldes im Phasenkontrastmikroskop treten an Proerythroblasten nicht selten Zytoplasmaausstülpungen auf. Derartige Beobachtungen mögen früher bei manchen Untersuchern zu der Meinung geführt haben, daß sich durch Abschnürungen von Zytoplasmateilen aus Proerythroblasten direkt Erythrozyten bilden können." Unsere Untersuchungen mahnen ebenfalls zur Vorsicht. Die Verlaufsbeobachtungen zeigen, daß Zytoplasmaabsprengungen, wenn überhaupt, nur äußerst selten zustande kommen. Aus Momentaufnahmen kann häufig der Eindruck einer völligen Abschnürung entstehen (Abb. 7 b), im weiteren Verlauf tauchen jedoch wieder fadenförmige Verbindungen zwischen Zelle und vermeintlichem Poikilozyten auf. Diese Verbindungen schnurren zusammen oder erweitern sich schlauchförmig,

während der "Poikilozyteninhalt" in die Zelle zurückfließt. Nach unseren Beobachtungen sind Zytoplasmaabspaltungen von Erythroblasten im Phasenkontrastmikroskop nur äußerst selten tatsächlich zu verifizieren. Vielleicht reißen aber in vivo die dünnen Zytoplasmaverbindungen durch die Strömung leichter ab.

ad 7. Mitochondrien, Glanzkörner und Vakuolen

Die Vergrößerung der Mitochondrien, die Ausbildung eines phasennegativen Zentrums und die fortschreitende Vergrößerung der Glanzkörner konnte an über 20 Zellen kontinuierlich beobachtet werden. Damit wird die Auffassung RINDs unterstützt, demzufolge degenerierende Mitochondrien Lipide einlagern und zu Glanzkörnern aufquellen. Dies bewies BEISSEL zytochemisch. RIND hält Glanzkörner und phasennegative Vakuolen für Plasmastrukturen, die nur bei atypischen Erythroblasten vorkommen; dieser Ansicht können wir uns nach unseren Beobachtungen nicht anschließen. AUST beschrieb Glanzkörner, die vornehmlich bei Plasma- und Plasmazytomzellen mit starker Pinozytoseaktivität vorkommen. Einen Zusammenhang mit Pinozytose haben wir nicht beobachtet. Die Zunahme der Glanzkörnerzahl an polychromatischen Erythroblasten in den Koagulumkulturen wies HÜBNER (Diss. 1970) nach.

RIND und STOBBE (1957) wiesen auf die phasennegativen Vakuolen in Retikulozyten hin, die als sekundäre Veränderungen der Innenstruktur aufgefaßt werden, da sich im Verlauf der Beobachtungszeit ihre Zahl und Größe vermehrt. Ihre auffällige Nachbarschaft zu Mitochondrien läßt auf eine Beziehung zu ihnen schließen. Warum es nicht bei allen Erythroblasten zu dementsprechenden Veränderungen an den Mitochondrien kommt, muß offen

bleiben. ZOLLINGER sah Glanzkörner einerseits als Sekret- oder Resorptionsgranula, andererseits als "Degenerationsgranula" an. Letztere sollten durch Anhäufung überflüssiger Zellprodukte entstehen.

ad 2. Fädige Verbindungen zwischen Erythroblasten

Da die fädigen Verbindungen meist zwischen 2 Zellen des gleichen Entwicklungsstadiums beobachtet werden, könnten sie ein Relikt der letzten Mitosephase darstellen. RIND (1963) beschrieb ebenso, daß die Tochterzellen einer Erythroblastenmitose noch für einige Zeit durch einen dünnen Strang miteinander verbunden bleiben. BOLL (1966) sah bei Granuloblasten im Phasenkontrastmikroskop zwischen den neu entstehenden Zellen ein Zytoplasmafädchen, das eine Weile persistierte.

Die Plasmabrücke, durch die die Tochterzellen noch längere Zeit nach der Anaphase miteinander verbunden bleiben, auch mid-body genannt (ALLENSPACH und ROTH, 1957), enthält den "Fleming-Körper". Dieser stellt sich elektronenmikroskopisch osmiophil dar, besteht aus Lipoprotein und enthält die Spindelfasern. OYE (1954) hält die Spindelfasern, die in der Plasmabrücke enthalten sind und nicht von Erythroblasten ausgestoßen werden, für den Ursprung der Cabot'schen Ringe.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Von 400 in vitro Überlebenden Erythroblasten werden die Kernflächen planimetrisch bestimmt. Die gefundene Größenverteilung deckt sich weitgehend mit den an gefärbten Ausstrichpräparaten gemessenen Werten. Wir sehen jedoch keine abgrenzbaren Kerngrößenklassen, sondern fließende Übergänge zwischen den einzelnen Reifungsstufen.

Durch Verlaufsmessungen werden Flächenänderungen an 70 Erythroblasten und ihren Kernen bis zu 50 Stunden verfolgt; die Flächenzeitkurven zeigen regellose Schwankungen ohne eindeutige Vergrößerungs- oder Verkleinerungstendenz. Die oft kurzfristigen Flächenschwankungen können z.B. durch Abkuglung oder Abflachung der Zellen eine Erklärung finden.

Für die Kern-Plasma-Relation werden an Phasenkontrastkulturen kleinere Werte gemessen als von Ausstrichpräparaten her bekannt sind.

Volumenberechnungen an Mutter- und Tochterzellen bestätigen die Abkuglung der Erythroblasten während der Mitose und die Zytoplasma- und Kernhalbierung.

Lokomotion von Erythroblasten wird in einem Fall von akuter Erythraemie (Di Guglielmo) beobachtet.

Das Blisterphänomen an Erythroblasten wird differenzierend beschrieben. Blister können sich unter Verdünnung der Zytoplasmaverbindung reversibel von der Zelloberfläche entfernen; tatsächliche Zytoplasmaabspaltungen sind nur äußerst selten zu verifizieren.

Durch Verlaufsmessungen wird der Übergang degenerierender Mitochondrien in Glanzkörner wahrscheinlich gemacht.

Fädige Verbindungen zwischen Erythroblasten werden beschrieben.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- ALLENSPACH, A. L. and ROTH, L. E. : Structural variations during mitosis in the chick embryo. J. Cell Biol. 33 (1967) 179
- ASHBY, W. : Determination of length of life of transfused blood corpuscles in man. J. Exper. Med. 29 (1919) 267
- AUST, G. : Phasenkontrastmikroskopische Verlaufsbeobachtungen an Plasma- und Plasmozytomzellen. Diss. Berlin 1968
- BEISSEL, A. : Optische und histochemische Untersuchungen an Glanzkörnern in kultivierten Knochenmarkzellen und phytohaemagglutinin-stimulierten Lymphozyten. Diss. Berlin 1969
- BIZZOZERO, J. : Sulla funzione ematopoetica del midollo delle ossa. Gazz. med. ital. (1868)
- BOLL, I. : Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkzellen in vitro. V. Mitteilung: Verhalten der Granuloblasten während der Interkinese. Blut XI (1965) 326
- BOLL, I. : Granulozytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik 17 Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1966
- BOLL, I. : Merokrine und apokrine Sekretion von Mesothelien und Knochenmarkszellen. Ärztl. Forsch. XXII (1968) 264

- BOLL, I. und
MERSCH, G. : Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro. Blut XVII (1968) 193
- BOSTRÖM, L. : Beobachtungen über die Form der roten Blutkörperchen im normalen und anämischen Blut sowie einige Reflexionen über die Erythropoese. Nord. med. (Hygiea) 103 . (1941) 1319
- BOSTRÖM, L. : Werden die roten Blutkörperchen der Erwachsenen durch Abschnürung von den Erythroblasten gebildet? Nord. med. (Hygiea) 106 (1944) 805
- BUCHER, O. und
KLÖTI, R. : Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. XV. Mitteilung: Über das intermitotische Kernwachstum. Z. Zellforsch. 42 (1955) 193
- FUNG, Y. C. B. and
TONG, P. : Theory of the sphering of red blood cells. Biophys. Journal 8 (1968) 175
- GEBAUER, C. : Erythroblasten- und Megaloblasten-Kerngrößen in Ausstrichen von Knochenmarkkulturen. Diss. Berlin 1970
- HABELMANN, G. : Die Knochenmarksgenese der Poikilozyten. Klin. Wschr. (1940) 1134
- HÜBNER, P. : Phasenkontrastoptische Untersuchungen über die Entstehung von Glanzkörnern in haemato-poetischen Zellen. Diss. Berlin 1970

- JAKOBI, W. : Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens.
Arch. Entwickl.-Mech. Org.
106 (1925) 124
- JENSEN, W. N. : Fragmentation and the "Freakish Poikilocyte".
Amer. J. med. Sci. 257
(1969) 355
- LAJTHA, L. G. and OLIVIER, R. : Studies on the kinetics of erythropoiesis. A model of the erythron.
In: Ciba Foundation Symposium on Haemopoiesis. S. 289
J. & A. Churchill, London, 1960
- LEIBETSEDER, F. : Erythropoese und Zellkerngröße.
Wien. Z. inn. Med. 29
(1948) 379
- LEIBETSEDER, F. : Karyometrie und Zytometrie.
Hdb. Allg. Hämat. I/1, S. 178
Urban & Schwarzenberg, München, 1957
- MOLLISON, P. L. and VEALL, N. : The use of the isotope ^{51}Cr as label for red cells.
Brit. J. Haemat. 1 (1955) 62
- MÜLLER, D. : Zytophotometrische Untersuchungen zur Frage der Erythroblastenreifung.
13. Tagg. Häm. Kgr. Ulm, 1968
- NEUMANN, E. : Über die Bedeutung des Knochenmarks für die Blutbildung.
Zbl. med. Wiss. 6 (1868) 689
- OYE, E. van : L'origine des anneaux de Cabot.
Rev. d'Hémat. 2 (1954) 173

- PAWELETZ, N. : Zur Funktion des "Flemming-Körpers" bei der Teilung tierischer Zellen. Naturwissenschaften 54 (1967) 533
- PLUM, C. M. : In vitro study of bone marrow. II. Studies of erythropoiesis. Blood 1 (1947) 42
- PLUM, C. M. : Études sur l'érythropoïèse "in vitro" dans des cultures de moelle osseuse (1) Sang. 19 (1949) 659
- RIND, H. J. : Angewandte Phasenkontrasthämатologie. Habil.-Schr. Gießen 1963
- RIND, H. J. : Atlas der Phasenkontrasthämатologie. Akademie-Verlag, Berlin, 1958
- RIND, H. J. und STOBBE, H. : Über "reife" und "unreife" Retikulozyten. Fol. haemat. N. F. 1 (1957) 219
- ROSE, G. G. : Phase-contrast microscopy in living cells. J. roy. micr. Soc. 83 (1964) 97
- RUHRMANN, G. : Morphologische Untersuchungen über die Erythropoese des Neugeborenen und des Säuglings. Z. ges. exp. Med. 140 (1966) 319
- SCHMID-SCHÖNBEIN, H. : Hämorheologie und Milzfunktion. 14. Dt. Hämat. Kgr. Kiel 1969
- SCHULTZ, W. und BUDING, A. : Über eigenartige Knochenmarksbefunde bei perniziöser Anämie. Dtsch. med. Wschr. (1940) 492

- SENDA, A. N. and
TAMURA, H. : The mechanism of the move-
ment of leucocyte.
In: Annual Report of the
Center for Adult Diseases.
Hamaya Co., Osaka, 1961
- STOEBBE, H. : Markerythropoese.
In: Hdb. d. Kinderheilkunde.
Springer-Verlag, Berlin -
Heidelberg - New York, 1967
S. 690
- STOEBBE, H. : Hämatologischer Atlas.
Akademie-Verlag, Berlin, 1960
- WEICKER, H. : Die hemi-homoplastische Teil-
ung des Proerythroblasten,
die Lösung des Stammzellpro-
blems der Erythropoese.
Pol. haemat. 74 (1956) 49
- WEICKER, H. : Das quantitative Gleichge-
wicht der Erythropoese. Zu-
gleich eine Widerlegung ei-
niger neuerer Erythrozyten-
bildungshypothesen.
Klin. Wschr. 31 (1963) 637
- WEICKER, H. : Biologische Grundlagen der
Blutbildung.
In: Hdb. d. Kinderheilkunde.
Springer-Verlag, Berlin -
Heidelberg - New York, 1967
S. 621
- WEICKER, H. und
FICHSEL, H. : Das Retikulozytenvolumen.
Klin. Wschr. 33 (1955) 1074
- WERMEL, E. M. und
PORTUGALOW, W. W. : Studien über ZellengöÙe und
Zellenwachstum.
XII. Mitteilung. Über den
Nachweis des rhythmischen
Zellenwachstums.
Z. Zellforsch. 22 (1935) 185

- ZOLLINGER, H. : Cytologic studies with the phase-microscope.
I. The formation of "blisters" on cells in suspension (pilocytosis) with observation on the nature of the cellular membrane.
Amer. J. Path. 24 (1948) 545
- ZOLLINGER, H. : Cytologic studies with the phase-microscope.
II. The mitochondria and other cytoplasmic constituents under various experimental conditions.
Amer. J. Path. 24, 3
(1948) 569
-

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie
EURATOM-GSF, Nr. O31-64-1 BIAD.

Am Schluß der Arbeit möchte ich Frau Professor
Dr. med. Irene Boll für die Überlassung des Themas
und für die jederzeit bereitwillige Hilfestellung
herzlich danken.

Lebenslauf

Geboren am 13. Oktober 1941 in Berlin als Tochter des Arztes Prof. Dr. Walter Seitz und seiner Ehefrau Eva Seitz, geb. Springer. Grundschule in Pfaffenhofen, Landkreis Neu-Ulm. Seit 1950 in Stuttgart auf dem Königin-Charlotte-Gymnasium, Abitur März 1960. Anschließend 1 Jahr am Wagner College, New York, USA. Medizinstudium ab November 1961 in München, Innsbruck und Berlin; Physikum Februar 1964, Staatsexamen März 1968. Anschließend Medizinalassistentenzeit: 4 Monate an der Chirurgischen Universitätspoliklinik in München, 4 Monate an der Landesfrauenklinik in Stuttgart sowie 4 Monate an der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Neukölln in Berlin. Seit dem 20.1.1969 mit Ulrich Correll verheiratet.

